

**AFPP – DIXIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES RAVAGEURS EN AGRICULTURE  
MONTPELLIER – 22 ET 23 OCTOBRE 2014**

**COMPOSES NATURELS BIOACTIFS CONTRE L'ALEURODE *BEMISIA TABACI***

E. DELETRE<sup>1</sup>, F. CHANDRE<sup>2</sup>, C. MENUT<sup>3</sup>, et T. MARTIN<sup>1,4</sup>

1: UR Hortsys, Cirad, Montpellier, France, [deletre.emilie@gmail.com](mailto:deletre.emilie@gmail.com)

2: UMR MiVEGEC, IRD-CNRS-UM1-UM2, Montpellier, France, [fabrice.chandre@ird.fr](mailto:fabrice.chandre@ird.fr)

3: IBMM, Faculté de Pharmacie, Montpellier, France, [cmenut@univ-montp2.fr](mailto:cmenut@univ-montp2.fr)

4: Plant health department, ICIPE, Nairobi, Kenya, [thibaud.martin@cirad.fr](mailto:thibaud.martin@cirad.fr)

**RESUME**

Dans les régions méditerranéennes, l'utilisation de filet à mailles fines est un outil efficace et durable pour lutter contre les ravageurs des cultures. Dans les régions tropicales, pour des raisons climatiques, seuls des filets à maille plus large sont utilisables et permettent de lutter contre les gros ravageurs comme les lépidoptères. Mais avec de tels filets les cultures de tomates ne sont pas protégées contre *Bemisia tabaci*. Une solution est de combiner un filet anti-insectes avec un répulsif. L'efficacité de filets traités avec différents extraits de plantes a été testée en laboratoire. Les plus répulsifs, irritants et toxiques contre *B. tabaci* ont été l'aframomum, le lemongrass, la cannelle, le géranium et la sariette. Les composés actifs de la cannelle et de la citronnelle ont été identifiés. Les différents effets ont varié en fonction du produit et de la concentration. Les composés seuls ont eu un effet moins important qu'en mélange, ce qui suggère une synergie entre les composés.

Mots clés : répulsion, irritation, toxicité, huile essentielle, IPM.

**ABSTRACT**

**NATURALLY OCCURRING BIOACTIVE COMPOUNDS AGAINST THE WHITEFLY *BEMISIA TABACI***

In tropical countries, the use of netting to protect horticultural crops is an effective sustainable tool against Lepidoptera but not against small pest as *Bemisia tabaci*, unlike in the Mediterranean region, where smaller mesh nets can be used. A solution is to combine an insect proof net with a repellent compound. Our study investigated in the laboratory the efficiency of nets impregnated with natural plant extracts against *B. tabaci*. The most repellent, irritant and toxic extracts were aframomum, lemongrass, cinnamon, geranium and savory. The bioactive compounds of cinnamon and lemongrass were identified. The repellency, irritancy or toxicity varied with the product and the concentration. The effects of these different compounds mixed together add up the bioactivity of the mixture, suggesting synergism between the compounds. The use of repellent compounds or companion plants in combination with netting as a strategy for protecting crops against whiteflies is discussed.

Keywords: repellency, irritancy, toxicity, essential oil, IPM.

## INTRODUCTION

En plein champ et sous serre, l'aleurode *Bemisia tabaci* est un ravageur important de nombreuses cultures aussi bien dans les régions tempérées que tropicales (Jing et al, 2003 ). Ce ravageur peut causer trois types de dommages : 1) des dommages directs par la consommation de la sève, 2) des dommages indirects par le développement de *Cladosporium spp.* et *Alternaria spp.* sur le miellat excrété qui limite la photosynthèse et 3) par la transmission de virus comme la *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), un complexe de géminivirus qui infectent les cultures de tomates dans le monde entier (Berlinger, 1986). Les aleurodes sont difficiles à contrôler, les insecticides systémiques comme les néonicotinoïdes sont actuellement utilisés (Muniz et al, 2002; Zhang et al, 2004). Mais des résistances à ces insecticides ont été démontrées dans les populations d'Europe et d'Afrique (Elbert et Nauen, 2000; Houndete et al, 2010). La résistance peut être sélectionnée rapidement en raison d'un taux de natalité élevé et d'un cycle de développement rapide (Perring, 2001).

L'utilisation de serres, de tunnels plastiques ou de filets anti-insectes permet une production rentable de tomates et d'autres légumes en particulier dans la région méditerranéenne (Berlinger et al, 2002). Les méthodes de lutte physique pour l'agriculture ont été largement examinées (Weintraub, 2009). Cependant, dans les régions tropicales à cause des températures et d'une humidité élevées, l'utilisation de filets à mailles fines réduit la ventilation, augmentant ainsi le risque de développement de champignons sur la plante (Fatnassi et al, 2002). Cependant des filets à mailles larges peuvent être utilisés (Martin et al, 2006). Malgré l'efficacité du filet à mailles larges à retarder les infestations en agissant comme barrière visuelle contre les insectes suceurs, les aleurodes peuvent passer à travers le filet et transmettre des virus réduisant considérablement les rendements (Gogo et al, 2012; Muleke et al, 2013). Ce problème pourrait être résolu en combinant un filet à mailles larges et un produit répulsif. Deux types de répulsifs seraient intéressants à combiner avec les filets : un répulsif à distance et un répulsif de contact dit 'irritant' (Deletre et al, en préparation). Sur culture de choux et de tomate, Martin *et al.* (2013, 2014) ont montré qu'un filet traité avec un pyréthrianoïde a réduit plus fortement l'infestation de pucerons et de mouches blanches qu'un filet non traité. En raison de la résistance des ravageurs aux pyréthrianoïdes, de nouveaux composés doivent être trouvés.

En raison de l'intérêt général pour les méthodes respectueuses de l'environnement, l'utilisation des insecticides de synthèse est déconseillée en raison des risques de contamination associés à leur utilisation. En revanche, les huiles essentielles sont considérées comme des produits à faible risque et semblent être des répulsifs prometteurs contre les insectes (Regnault - Roger et al, 2002; Hilje & Mora, 2006; Amer & Melhorn, 2006; De Boer et al, 2010; Nerio et al, 2010; Maia & Moore, 2011; Zoubiri et Baalioumer, 2011; Regnault - Roger et al, 2012). Les huiles essentielles sont des mélanges de 10 à 60 molécules dans des proportions diverses. Mais seulement deux ou trois composés majeurs seraient généralement responsables de leurs activités biologiques (Ipek et al, 2005). Par exemple, les monoterpènes sont des petites molécules très volatiles qui pourrait provoquer une répulsion à distance, comme le citronellal, le myrcène, le géraniol, le citral, le limonène, les pinènes, le citronellol, l'eugénol, le linalool (Moore et al, 2007). De plus, les huiles essentielles pénètrent facilement la cuticule et peuvent être très réactives. Ces propriétés pourraient avoir un intérêt dans le cas où les insectes restent une courte période sur les filets traités. Par ailleurs, aucune résistance et aucune adaptation à ces produits n'ont été encore décrite (Bakkali et al, 2008). Ceci dit les modes d'actions de la répulsion et de l'irritation ne sont pas réellement connus. Il est donc important d'identifier et d'étudier les propriétés des composés actifs pour être en mesure d'examiner tout leur potentiel d'utilisation comme répulsif et/ou insecticides.

Le principal objectif de cette étude était de trouver des produits répulsifs qui pourraient être combinés avec des filets. Dans un premier temps les effets répulsif, irritant et toxique de 20 extraits de plantes sur *B. tabaci* ont été étudiés en laboratoire. Les analyses chimiques des extraits de plantes ont été effectuées pour vérifier leur composition. Dans un second temps, le(s) composé(s) actif(s) de deux huiles essentielles prometteuses ont été identifiés. En effet, les huiles essentielles sont des mélanges complexes de plusieurs molécules et l'un des objectifs de cette étude était de comprendre leur mécanisme d'action. Il y avait deux hypothèses : 1) l'activité biologique des huiles essentielles est due au seul composé majoritaire ou 2) à un effet additif/synergique de plusieurs composés.

## MATERIEL ET MÉTHODE

### INSECTES

Les aleurodes de l'espèce *B. tabaci* biotype Q ont été élevées sur des plants de tomate *Solanum lycopersicum* L. à  $27\pm1^{\circ}\text{C}$  avec une humidité relative de  $50\pm10\%$  et une photopériode 12h:12h.

### PRODUITS

Après une synthèse bibliographique, une importante liste de plantes a été établie en fonction de leurs effets sur les insectes, leur innocuité pour les humains et leurs composés principaux (Regnault-Roger et al, 2002; Hilje & Mora, 2006; Amer & Melhorn, 2006; Boer et al, 2010; Nerio et al, 2010; Maia & Moore, 2011; Zoubiri et Baalioumer, 2011; Regnault-Roger et al, 2012). Les 20 extraits de plantes utilisés pour cette étude ont été choisis à partir de cette liste en prenant des plantes aux compositions chimiques différentes, caractérisées par un ou deux composés majeurs et ont été testés à 0,01%, 0,1% et 1% (v/v) dilué dans l'éthanol (Tableau I). Les mélanges de composés majeurs de l'huile essentielle de cannelle et de citronnelle ont été testés en respectant le ratio trouvé dans l'huile essentielle ainsi que un à un dans les mêmes quantités que pour le test des huiles essentielles: le citronellal ( $\geq 95\%$  purity), le geraniol (98% purity), le citronellol ( $\geq 95\%$  purity), le (S)-(-)-limonene (96% purity), le geranyl acetate (98% purity), le trans-cinnamaldehyde (99% purity), le 2-méthoxy-cinnamaldehyde (98% purity), et le cinnamyl acetate (99% purity) fournis par Sigma Aldrich, France (Tableau II). Le DEET est un répulsif efficace contre diverses espèces d'insectes (Debboun et al, 2006) et la perméthrine, un pyréthrianoïde, est connue pour ses propriétés toxiques et excito-répulsives (WHO, 2011). Pour cette raison, le DEET et la perméthrine ont été utilisés comme témoins positifs et l'éthanol (solvant) comme témoin négatif.

### ANALYSE EN CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE

Les extraits de plantes ont été analysés sur un chromatographe en phase gazeuse modèle Varian CP-3380, avec un détecteur à ionisation de flamme équipé d'une colonne capillaire en silice: HP5 J&W Agilent (5% -phényl-méthylpolysiloxane) (30 m x 0,25 mm de diamètre intérieur x 0,25 µm pellicule); le gaz porteur était du  $\text{N}_2$  à 0,8 mL/min; 1 µL de solution diluée dans du dichlorométhane à 10% a été injecté; la température de l'injecteur était de  $220^{\circ}\text{C}$ , celle du détecteur  $250^{\circ}\text{C}$ ; la température a augmenté de  $60$  à  $220^{\circ}\text{C}$  à  $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , puis maintenu à  $220^{\circ}\text{C}$  pendant 20 min. La composition en pourcentage de l'extrait de plante a été calculée à partir de l'analyse GC/FID selon la méthode de normalisation, les facteurs de réponse de tous les composés ont été considérés comme uniques.

### ESSAIS COMPORTEMENTAUX

Un seul extrait de plante a été testé par jour mais toutes ses concentrations ont été testées le même jour en commençant par la plus basse et les systèmes d'expérimentation ont été immergés toute une nuit dans une solution de détergent/décontaminant (TFD4, Franklab, France) à 20 % (v/v). Ce protocole réduit les risques de contamination ainsi que l'interaction entre les composés volatils.

#### Test d'efficacité

Le système utilisé était composé de deux tubes en plastique transparent (Dominique Dutscher SAS®, Ø 5cm, L 10cm) séparées par un filet. Le filet Agronet 0,9 NT en polyéthylène avec 40 mailles de 0,9 mm/cm<sup>2</sup> a été fourni par la compagnie A to Z Textile Mills Ltd (Arusha, Tanzanie). Un carré de 36 cm<sup>2</sup> de filet a été immergé pendant 10 secondes dans la solution test puis a été laissé à sécher pendant 15 min sous une hotte aspirante. Les extrémités des tubes ont été fermées par un filet de maille très fine que ne pouvaient pas traverser les aleurodes. Un cache a été utilisé pour couvrir le « tube noir » et empêcher la lumière de traverser, l'autre tube étant appelé « tube clair ». Le système a été orienté horizontalement sous une source de lumière dans une chambre climatique ( $27\pm1^{\circ}\text{C}$ ,  $50\pm10\%$  HR). Cette orientation a profité de la tendance innée de l'aleurode à se déplacer vers la lumière en raison d'une phototaxie positive. Après 1 min au congélateur ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) pour les endormir, entre 50 et 100 *B. tabaci* adultes (sexe et âge confondu) ont été placés dans le tube noir. Chaque concentration a été

répliquée simultanément 6 fois. Le nombre de mouches blanches dans chaque tube a été calculé après 4 h de test afin de déterminer le taux de passage à travers le filet ainsi que le taux de mortalité (Martin et al, 2014). Les aleurodes présents dans le tube clair ont été déposés sur des feuilles de tomate placées sur de la gélose à 1% dans une boîte de Pétri. Les boîtes ont été placées dans la chambre climatique ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $50 \pm 10\%$  HR) et le taux de mortalité a été enregistré 24 h plus tard.

#### Test de l'effet répulsif

Un olfactomètre vertical sans courant d'air a été utilisé pour évaluer l'effet répulsif des extraits de plantes (Zhang et al, 2004). Il était composé d'un cylindre de verre (L : 30 cm,  $\varnothing$  3cm) fourni par Legallais (Montpellier, France), fermé au sommet avec dans l'ordre 1) un filet à mailles très fines que les aleurodes ne peuvent pas traverser, 2) un tissu traité et 3) un bouchon de verre. Le filet a empêché le contact entre le produit et les tarses des insectes et leurs pièces buccales. Le tissu était un carré de 3 cm de tissu non tissé; le carré central de 2 cm a été traité avec 40  $\mu\text{L}$  de solution à différentes concentrations allant de 10% à 0,01 % (v/v) selon l'efficacité du produit testé et laissé à sécher pendant 15 minutes sous une hotte aspirante. Quatre répétitions de chaque concentration ont été testées en même temps avec quatre témoins (tissu traité avec 40  $\mu\text{L}$  d'éthanol) sous la hotte aspirante. L'extrémité du tube a été fermée avec un bouchon en verre percé d'un cylindre (L: 10 cm,  $\varnothing$  0,5cm). Le cylindre a été orienté verticalement sous une source de lumière (lumière blanche de 30cm, 8W). A cause de la tendance innée de l'aleurode à aller vers la lumière (phototaxie positive), les aleurodes ont eu tendance à se trouver en haut de l'olfactomètre. Le cylindre a été divisé en trois parties: de 0 à 2 cm de la partie supérieure du cylindre (partie haute), de 0 à 10 cm de la partie inférieure du cylindre (partie basse), et l'espace entre ces deux parties (partie médiane). Après 1 min à  $-20^\circ\text{C}$ , entre 10 et 20 *B. tabaci* adultes (sexe et âge confondus) ont été placés à l'intérieur du cylindre. Après 1h, le nombre d'aleurodes dans chaque partie a été enregistré. Lorsque le produit testé était répulsif les aleurodes restaient dans la partie basse du cylindre.

#### Essais biologiques d'irritation

Pour ce test, un papier noir de 12x15 cm a été traité avec 2 ml de solution. Le carré de papier a été préparé et utilisé le même jour. Entre les essais, le carré de papier était stocké à  $-20^\circ\text{C}$ . Le test a été réalisé avec le citronellal, l'acétate de géranyle, et le 2-méthoxycinnamaldéhyde à 1 %; l'aldéhyde cinnamique et l'acétate de cinnamyle à 0,5% ; ainsi qu'avec les témoins positifs: DEET et perméthrine à 1% et l'éthanol (solvant) comme témoin négatif. Le dispositif était composé d'un carré de 16  $\text{cm}^2$  dont une moitié était traitée avec la solution (zone traitée) et l'autre avec le solvant (zone témoin). Cette zone était délimitée par un carton d'une épaisseur de 2 mm et d'un couvercle en plexiglas pour empêcher les aleurodes de s'échapper lors de l'expérience et de les forcer à marcher sur le papier au lieu de voler. Les aleurodes ont été placés un par un au centre de l'arène. Leur activité a été observée pendant 10 minutes: le temps passé à se déplacer, la vitesse moyenne lors du déplacement, la distance parcourue et le temps passé sur chaque zone. L'expérience a été répétée 30 fois et après 5 enregistrements le carré de papier a été remplacé et changé d'orientation.

#### Analyse des données.

Nous avons utilisé la même méthode pour analyser la proportion des aleurodes morts et la proportion qui a traversé le filet. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel R2.12.2 (R Development Core Team, 2012). Les proportions des traitements ont été comparées à celle des témoins en utilisant le test exact de Fisher. Pour prendre en compte la multiplicité des tests, les p-values des tests ont été corrigées à l'aide de Bonferroni-Holm (Holm, 1979). Pour les essais biologiques de répulsifs, la distribution des aleurodes dans l'olfactomètre a été comparée entre les témoins et les traitements en utilisant le test exact de Fisher. Pour le test d'irritation, un test de Student ou un test de Wilcoxon, en cas de distribution non normale, a été utilisé pour comparer l'activité biologique des aleurodes.

## RÉSULTATS

### TEST D'EFFICACITE

Douze des 20 extraits de plantes ont réduit significativement, au moins à une concentration, la proportion de *B. tabaci* qui ont traversé le filet traité: aframomum, cannelle, citronnelle, cumin, géranium, gingembre, citron, citronnelle, litsea, neem, solidage et sarriette (Tableau I). Les deux produits de synthèse, le DEET et la perméthrine, ont également diminué de manière significative le taux de passage à travers le filet traité à partir de 0,01%. Après 4h de test, 13 extraits de plantes ont montré un effet toxique significatif au moins à une concentration: aframomum, cannelle, citronnelle, cumin, aneth, géranium, citron, citronnelle, litsea, neem, romarin, sarriette et thym. Les deux produits de synthèse ont également eu un effet toxique. Après 24 h, 9 extraits de plantes ont présenté une toxicité sur les aleurodes qui ont traversé le filet traité, donc qui ont été obligatoirement en contact avec l'extrait: aframomum, citronnelle, coriandre, géranium, citronnelle, litsea, neem, pennyroyal, et sarriette. Un effet dose-dépendant a été observé sur les taux de mortalité. Les deux produits de synthèse ont également eu un effet toxique sur les aleurodes qui ont traversé le filet. Après 4 h de test, tous les aleurodes en présence d'un filet traité avec l'huile essentielle de cannelle à une concentration de 1% ont été tués avant de traverser le filet ce qui rend impossible le calcul de la mortalité après 24 h des aleurodes ayant traversé le filet. Les huiles essentielles d'aframomum, de cannelle, de géranium, et de sarriette ont été les plus toxiques ?

Le taux de passage à travers le filet a été significativement réduit pour les deux mélanges de composés majeurs et les composés purs suivants: le cinnamaldéhyde, l'acétate de cinnamyle, le citronellal, le géraniol, le citronellol, et le limonène (Tableau II). Après 4h, la mortalité a significativement augmenté pour ces mêmes produits. Après 24 h, la mortalité a augmenté significativement pour l'acétate de cinnamyl, le géraniol et le citronellol. A concentration élevée, le mélange de composés majoritaires de la cannelle et le cinnamaldehyde ont tué tous les aleurodes, même si certains ont réussi à traverser le filet traité avant de mourir. Par contre à forte concentration, le mélange de citronnelle a limité le passage de aleurodes à travers le filet ou les a tués mais une fois que les aleurodes ont réussi à traverser le filet, leur mortalité (après 24 h) est devenue faible.

### ESSAI BIOLOGIQUE SUR L'EFFET REPULSIF

Deux extraits de plantes ont été significativement répulsifs aux trois concentrations testées: l'aframomum et la citronnelle (Tableau I). Douze extraits de plantes ont été significativement répulsifs à deux concentrations: cannelle, cumin, aneth, géranium, gingembre, Lemongrass, Litsea, menthe pouliot, sarriette, solidage, et thym. Cinq extraits de plantes ont été significativement répulsives à une seule concentration: coriandre, eucalyptus, citron, poivre et romarin. Le neem n'a pas été répulsif quelle que soit la concentration utilisée. Le DEET a été sensiblement répulsif à 0,1% et 1 % alors que la perméthrine n'a pas été répulsive quelle que soit la concentration. Les extraits de plantes et les témoins positifs, le DEET et perméthrine, ont provoqué un taux de mortalité de moins de 2%.

Le mélange des composés majoritaires de la cannelle a été répulsif à 0,1 % et a provoqué une forte mortalité de vapeur à 1 %. Parmi les composés du mélange, le cinnamaldehyde s'est montré répulsif quelle que soit la dose mais avec une mortalité de 30% (Tableau II). Le mélange de composés majoritaires de la citronnelle s'est montré répulsif à 0,1 % et à 1 % avec une toxicité de la vapeur élevée et parmi les composés le géraniol, le citronellol, l'acétate de géranyle se sont montré répulsifs et à la plus forte concentration testée le citronellal a montré une forte toxicité de vapeur à 0,34 mg.L<sup>-1</sup>.

**Tableau I.** Extraits de plantes sélectionnés et leurs effets biologiques sur *Bemisia tabaci* (Regnault-Roger *et al*, 2002; Hilje & Mora, 2006; Amer & Melhorn, 2006; Boer *et al*, 2010; Nerio *et al*, 2010; Maia & Moore, 2011; Zoubiri & Baalioumer, 2011; Regnault-Roger *et al*, 2012).

**Tableau I.** Selected plant extracts and their biological effects on *Bemisia tabaci* (Regnault-Roger *et al*, 2002; Hilje & Mora, 2006; Amer & Melhorn, 2006; Boer *et al*, 2010; Nerio *et al*, 2010; Maia & Moore, 2011; Zoubiri & Baalioumer, 2011; Regnault-Roger *et al*, 2012).

Nom commun	Nom latin	Type d'extrait, organe extrait	Composés majeurs (%) <sup>1</sup>	Fournis par	R <sup>2</sup>	TP	T 4h	T 24h
DEET	composé synthétique		N,N-Diethyl-3-methylbenzamide	Sigma Aldrich, France	++	+++	++	++
Permethrine	composé synthétique		pyréthrineoïde	Sigma Aldrich, France	0	+++	++	++
Aframomum	<i>Aframomum prunosum</i>	Huile essentielle, feuille	(E)-(R)-nerolidol (95%)	IBMM*, France	+++	++	+++	+++
Aneth	<i>Anethum graveolens</i>	Huile essentielle, graine	(+)-carvone(60%) – limonene (30%)	IBMM, France	++	+	+	0
Cannelle	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Huile essentielle, écorce	Cinnamaldehyde (80%)	Nactis, France	++	+	+	0
Citron	<i>Citrus limon</i>	Huile essentielle, fruit	(D)-limonene (95%)	Capua, Italy (Lot 20500)	++	0	0	0
Citronnelle	<i>Cymbopogon winterianus</i>	Huile essentielle, feuille	citronellal (34%) – geraniol (22%) – citronellol (12%)	Nactis, France (Lot 4001850)	+++	0	0	+
Coleus	<i>Plectranthus tenuicaulis</i>	Huile essentielle, feuille	Epoxyocimene (74.4%)	IBMM, France	++	+++	+	0
Coriandre	<i>Coriandrum sativum</i>	Huile essentielle, graine	(+)-linalool (72%)	Fabster, France	++	0	++	+
Cumin	<i>Cuminum cyminum</i>	Huile essentielle, graine	Cuminaldehyde (30%)	Iptra, France (Lot 902560)	+	0	0	0
Eucalyptus	<i>Eucalyptus globulus</i>	Huile essentielle, graine	1,8-cineole (81%)	Huiles & Sens, France (Lot B38037)	++	+	+	0
Geranium	<i>Pelargonium graveolens</i>	Huile essentielle, graine	citronellol (41%) – geraniol (18%)	IBMM, France	++	+	0	++
Gingembre	<i>Zingiber officinalis</i>	Huile essentielle, racine	Zingiberene (30%)	Iptra, France (Lot 902724)	+	+++	+++	0
Lemongrass	<i>Cymbopogon citratus</i>	Huile essentielle, feuille	Geranial (45%), neral (30%)	IBMM, France	++	++	+++	+
Litsea	<i>Litsea cubeba</i>	Huile essentielle, feuille	Geranial (45%), neral (32%)	IBMM, France	++	+++	+++	+
Pennyroyal	<i>Mentha pulegium</i>	Huile essentielle, feuille	(+)-pulegone (87%)	IBMM, France	0	+	+	+
Neem	<i>Melia azadirachta</i>	Huile végétale, feuille	azadirachtin (<1%)	Huiles & Sens, France (Lot 00028/11)	++	0	0	++
Poivre	<i>Piper nigrum</i>	Huile essentielle, graine	β-caryophyllene (30%), limonene (14%), pinenes (14%)	IBMM, France	+	0	0	0
Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Hydrolat biologique, feuille	eau (98%), 1,8-cineole (<1%), camphene (<1%), camphor (<1%),	Huiles & Sens, France (Lot EB815N002)	+	0	+	0
Sariette	<i>Satureja montana</i>	Huile essentielle, feuille	Carvacrol (47%), γ-terpinene (18%), p-cymene (13%)	Huiles & Sens, France (Lot B854002)	++	+++	+++	+
Solidage	<i>Solidago canadensis</i>	Huile essentielle, feuille	Germacrene-D (32%) - Limonene (13%)	Huiles & Sens, France (Lot A2)	++	+++	0	0
Thym	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Huile essentielle, feuille	Thymol (35%), p-cymene (23%), carvacrol (15%)	Huiles & Sens, France (Lot A2)	++	0	+	0

<sup>1</sup> La composition en pourcentage de l'extrait de plante a été calculée à partir de l'analyse GC/FID selon la méthode de normalisation, les facteurs de réponse de tous les composés ont été considérés comme unique.

<sup>2</sup>R= effet répulsif, TP= taux de passage à travers le filet, T (4h)/(24h)= toxicité après 4h/24H

**Tableau II:** Composition des huiles essentielles de citronnelle et de cannelle et effets biologiques sur *Bemisia tabaci* des composés majoritaires de ces huiles seuls et en mélange.

**Tableau II :** Essential oils composition of citronella and cinnamon and their biological effects on *b-Bemisia tabaci* of the major compounds of essential oils and their mixture.

Huile essentielle	Composition (%)	Quantité testée (mg/ml) <sup>1</sup>		Répulsion	Irritation	Taux de passage	Toxicité (4h)	Toxicité (24h)
		C1	C2					
Citronnelle <i>Cymbopogon winterianus</i>	34.7 citronellal	0.291	2.91	+	0	+	+	+
	22.5 geraniol	0.205	2.05	+++	NT	+	+	++
	12.0 citronellol	0.102	1.02	+	NT	++	+	++
	3.5 geranyl-acetate	0.037	0.37	+	0	0	0	0
	3.3 limonene	0.025	0.25	++	NT	+	+	0
	<b>76.0 Sous-total (mélange)<sup>2</sup></b>			+	<b>NT</b>	+	+	<b>0</b>
	3.2 elemol	NT	NT					
	2.9 citronellyl acetate	NT	NT					
	2.5 β-elemene	NT	NT					
	2.2 δ-cadinene	NT	NT					
	0.9 linalol	NT	NT					
	0.8 eugenol	NT	NT					
	<b>89.5 total</b>							
Cannelle <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	78.5 trans-cinnamaldehyde	0.840	8.40	+++	0	++	+	0
	9.6 2-methoxy-	0.090	0.90	0	0	+	0	0
	3.1 cinnamyl-acetate	0.032	0.32	0	0	+	++	+
	<b>91.2 sous-total (mélange)<sup>3</sup></b>			++	<b>NT</b>	<b>0</b>	+	<b>0</b>
	1.1 benzaldehyde	NT	NT					
	0.9 coumarine	NT	NT					
	0.7 phenyl ethyl alcohol	NT	NT					
	0.4 cis-cinnamaldehyde	NT	NT					
	<b>94,3 total</b>							

<sup>2</sup> Les quantités utilisées sont exprimées en mg/ml de solution dans laquelle les filets ont été plongés

<sup>3</sup> 34.74% citronellal, 22.50% geraniol, 12.03% citronellol, 3.51% geranyl acetate, 3.34% limonene.

<sup>4</sup> 78.51% cinnamaldehyde, 9.65% 2-metoxycinnamaldehyde, 3.15% cinnamylacetate

\* + = une *p*-value a été significaitve, 0 = aucune *p*-value n'a été significative, NT = non testé.

## ESSAIS BIOLOGIQUES SUR L'EFFET IRRITANT

Dans ce test, quel que soit le composé testé, le temps passé sur la zone traitée et celui passé sur la zone témoin n'ont pas été significativement différents. De même, l'activité des aleurodes n'a pas été différente entre les zones traitées et le témoin, excepté pour l'acétate de cinnamyle où les aleurodes ont été significativement moins mobiles sur la surface traitée que sur la surface témoin et pour le DEET où ils ont été plus mobiles. Cet essai ne permet donc pas d'affirmer que les *B. tabaci* ne franchissent pas le filet parce qu'il est irritant. DEET où ils ont été plus mobiles. Cet essai ne permet donc pas d'affirmer que les *B. tabaci* ne franchissent pas le filet parce qu'il est irritant.

## DISCUSSION

L'originalité de cette étude a été de relier l'effet comportemental sur un insecte agricole d'une huile essentielle et de ses composés majoritaires, employés seuls et en mélange. Les huiles essentielles les plus répulsives contre *B. tabaci* ont été l'aframomum et la citronnelle, bien que la cannelle, le géranium et la sarriette ont également été répulsifs à des doses plus élevées. Parmi les composés du mélange de cannelle seul le cinnamaldéhyde a été aussi répulsif que le mélange donc l'effet répulsif

de l'huile essentielle de cannelle a sûrement été dû à l'effet de celui-ci. Parmi les composés de la citronnelle le géraniol, le citronellol, l'acétate de géranyle ont été répulsifs. Ce résultat suggère que l'effet répulsif de la citronnelle est dû à un effet conjugué de ces 3 composés. Ainsi, l'effet répulsif des huiles essentielles serait lié à l'un des composés majeurs ou à un mélange de certains composés majeurs. La toxicité des composés majeurs testés un à un a été plus faible que leurs mélanges associés à l'exception du cinnamaldehyde. La toxicité de la cannelle est sûrement due à ce produit. Par contre le citronellol, le citronellal, et le géraniol sont toxiques, mais pas autant que le mélange des composés majoritaires de la citronnelle. Un effet synergique ou additif entre les composés pourrait expliquer ces résultats. Sauf pour le cinnamaldehyde, le taux de passage à travers les filets traités avec un unique composé a été plus élevé que leurs mélanges associés. En d'autres termes, un composé seul a été moins efficace en tant que barrière olfactive que son mélange associé ou que son huile essentielle. Dans de nombreuses études, l'activité d'une huile essentielle contre les insectes est expliquée par les composés majoritaires (Ipek et al, 2005). Cependant l'activité des principaux composés pourrait être modulée par d'autres composés mineurs (Franzios et al, 1997; Santana-Rios et al, 2001; Hoet et al, 2006). En effet, certains composés des huiles essentielles sont impliqués dans la pénétration cellulaire, l'attraction et la fixation sur les parois et les membranes cellulaires lipophiles ou hydrophiles, et la détermination de la répartition cellulaire des différents types de réactions radicalaires produites (Bakkali et al, 2010). Nos résultats ont montré que l'effet biologique d'une huile essentielle n'est pas toujours due uniquement à l'activité du composé majeur. Ils confirment les résultats que nous avons obtenus dans une étude similaire réalisée sur un autre insecte modèle, *Anopheles gambiae* (Deletre et al, 2013, à paraître). En effet, des effets synergiques peuvent se produire entre les composés majeurs et/ou mineurs. La toxicité et la répulsion semblent être des effets indépendants. Cela suggère que les mécanismes d'action sont différents. Nous pouvons remarquer que les composants actifs des huiles essentielles sont des aldéhydes ou des alcools.

La littérature est bien documentée sur l'effet des huiles essentielles sur le comportement des insectes, mais très peu sur l'effet de leurs composés majeurs pris un à un ou en mélange, illustrant le manque de connaissances sur le ou les mécanismes d'action des huiles essentielles. En effet au niveau des sensilles des insectes, des protéines de liaison spécialisées dans les odeurs réagissent aux volatiles de plantes telles que les composés des huiles essentielles. Les composés répulsifs pourraient donc fonctionner grâce à l'activation des récepteurs des neurones olfactifs (Dekker et al, 2011), et les composés irritants par l'activation des récepteurs des neurones gustatifs sur les tarses (Vosshall & Stocker, 2007). Pour leurs propriétés toxiques, deux voies ont été principalement étudiées: l'inhibition de la cholinestérase et l'interférence avec le neuromodulateur d'octopamine et le canaux GABA- chlorure dépendants (Isman, 2000; Isman, 2006; Regnault-Roger et al, 2012). Bien qu'il ait été montré que des composés purs du mélange complexe des huiles essentielles peuvent être détectés par les antennes des insectes et peuvent contribuer à la répulsion, le mode d'action exacte des huiles essentielles n'a jamais été détaillé (Dekker et al, 2011; Ramirez et al, 2012). Une question qui reste sans réponse est de savoir si la propriété d'un produit irritant est une conséquence de doses sublétales comme suggéré par Miller et al (2009), ou reflète un autre mode d'action. Nos données n'ont pas révélé d'effet irritant à faibles doses mais un effet toxique à fortes doses. Comprendre la relation entre le mode d'action et le comportement associé pourrait aider à identifier de nouveaux composés et réduire le risque de résistance. En fait, si ces effets se produisent indépendamment - comme suggéré par nos résultats - une population qui est résistante à un seul effet serait encore sensible à l'autre. Le fait que les effets soient indépendants pourrait également s'expliquer par le fait que les composés impliqués ne seraient pas les mêmes, ou soit parce qu'il existe plusieurs sites d'actions.

Les composés les plus prometteurs pour le traitement de filets anti-insectes semblent être le cinnamaldehyde, le limonène, le citronellol, le citronellal, et le géraniol parce que le taux de passage de *Bemisia tabaci* à travers des filets traités avec ces produits a été le plus faible. Les trois composés suivants : le cinnamaldehyde, le citronellol, le géraniol ont été répulsifs, mais ils n'ont pas montré



d'effet irritant. Parmi ces composés, le cinnamaldehyde a montré la toxicité la plus élevée (100%). Le géraniol et le citronellol seraient donc les composés les plus prometteurs en association avec le filet. Même si l'utilisation d'un filet imprégné d'un pyréthroïde à la fois irritant et insecticide a déjà donné de bons résultats sur au champ sur pucerons et aleurodes (Martin et al, 2013, 2014), ce screening que nous avons réalisé en laboratoire ne fournit que des hypothèses sur les produits naturels alternatifs. Une autre approche serait d'utiliser des plantes compagnes ou une culture associée. En effet, une plante répulsive pourrait être combinée avec l'utilisation d'un filet. Elle agirait comme un diffuseur naturel pour produire des composés répulsifs contre le ravageur, réduisant ainsi la quantité de produits chimiques nécessaires pour la protection des cultures. Dans notre cas des plantes qui contiennent du géraniol et/ou du citronellol en quantité relativement élevée pourrait être utilisées, si elles correspondent aux exigences des conditions de culture. Mansour et al (2012) a déjà montré que la culture associée de plants de tomates avec le gombo et l'aubergine a diminué l'infestation d'aleurode comparativement à une unique parcelle de tomate monoplantée. Togni et al (2010) ont montré également que les volatiles de coriandre masquent les volatiles de tomates aux aleurodes au moment de la sélection de la plante hôte. Tosh et Brogan (2014) ont aussi émis l'idée que de fournir une surabondance de composés volatiles aux aleurodes aurait pour conséquence de provoquer un effet de confusion à cet insecte généraliste.

En conclusion, cette étude a identifié des composés répulsifs prometteurs pouvant être émis par des plantes compagnes ou des diffuseurs pour repousser les mouches blanches. Ces composés pourraient être utilisés seuls ou en mélange comme barrière olfactive pour compléter la barrière visuelle et physique d'un filet anti-insectes afin de protéger les cultures horticoles.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions le Cirad, l'IRD et la foundation Paris, France, pour leur soutien. Merci également à Maelle Mallent et Barbara Barkman pour avoir effectué leur stage au sein du Cirad.

## BIBLIOGRAPHIE

- Amer A., Mehlhorn H., 2006 - Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitol Res.* 99, 478-490.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008 - Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446-475.
- Berlinger M.J., 1986 - Host plant resistance to *Bemisia tabaci*. *Agriculture Ecosystems Environnement*, 17, 69-82.
- Berlinger M.J., Lebiush-Mordechi S., Rosenfeld J., 1996 - State of the art and the future of IPM in greenhouse vegetables in Israel. *IOBC/WPRS Bull.*, 19, 11-14.
- Berlinger M.J., Taylor R.A.J., Lebiush-Mordechi S., Shalhevet S., Spharim I., 2002 - Efficiency of insect exclusion screens for preventing whitefly transmission of tomato yellow leaf curl virus of tomatoes in Israel. *Bull Entomol Res.*, 92, 367-373.
- De Boer H., Vongsombath C., Palsson K., Björk L., Jaenson T., 2010 - Botanical repellent and pesticides traditionally used against hematophagous invertebrates in Lao People's Democratic Republic: a comparative study of plants used in 66 villages. *J. Med. Entomol.*, 47, 400-414.
- Debboun M., Frances S.P., Strickman D.A., 2006. *Insect repellents: principles, methods, and uses*. CRC.
- Dekker T., Ignell R., Ghebru M., Glindwood R., Hopkins R., 2011 - Identification of mosquito repellent odours from *Ocimum forskolei*. *Parasites & Vectors*, 4, 183-189.
- Elbert A., Nauen R., 2000 - Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. *Pest Manag. Sci.*, 56, 60-64.
- Fatnassi H., Boulard T., Demrati H., Bouirden L., Sappe G., 2002 - Ventilation performance of a large canarian-type greenhouse equipped with insect-proof nets. *Biosyst. Engng.*, 82, 1, 97-105.
- Franzios G., Mirotsou M., Hatzia Apostolou E., Kral J., Scouras Z.G., Mavragani-Tsipidou P., 1997 - Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2690-2694.

Gogo E.O., Saidi M., Itulya F.M., Martin T., Ngouajio M., 2012 - Microclimate Modification Using Eco-Friendly Nets for High Quality Tomato Transplant Production by Small-Scale Farmers in East Africa. *Hort. Techno.*, 22, 292-298.

Hilje L., Mora G.A., 2006. Promissory botanical repellents/deterrents for managing two key tropical insect pests, the whitefly *Bemisia tabaci* and the mahogany shootborer *Hypsipyla grandella*. pp. 379-403. M. Rai and M.C. Carpinella (eds) Naturally occurring bioactive compounds, Vol. 3. Elsevier.

Hoet S., Stévigny C., Hérent, M.F., Quetin-Leclercq J., 2006 - Antitrypanosomal compounds from leaf essential oil of *Strychnos spinosa*. *Planta Med.*, 72, 480-482.

Holm, S. 1979 - A simple sequential rejective multiple test procedure. *Scandinavian J. Stat.*, 6, 65-70.

Houndété T.A., Kétoh G.K., Hema O.S.A., Brévault T., Glitho I.A., Martin T., 2010 - Insecticide resistance in field populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in West Africa. *Pest Manag. Sci.*, 66, 1181-1185.

Ipek E., Zeytinoglu H., Okay S., Tuylu B.A., Kurkcuglu M., Husnu Can Baser K., 2005 - Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chem.*, 93, 551-556.

Isman M.B., 2000 - Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.*, 19, 603-608.

Isman M.B., 2006 - Botanical insecticides, deterrent and repellent in modern agriculture and an increasingly regulate world. *Ann. Rev. Entom.*, 51, 45-56.

Jing Y., Huang J., Ma R.Y., Han J.C., 2003 - Host plant preferences of *Bemisia tabaci* Gennadius. *Entom. Sinica.*, 10, 2, 109-114.

Maia F.M., Moore S.J., 2011 - Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malar. J.*, 10, S11, 1-15

Mansour S.A.A., Roff M.N., Saad K.A., Abuzid I., Idris A.B., 2012 - Responses of Whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae) Population on Tomato *Lycopersicon esculentum* Mixed with Other Crops under Glasshouse Conditions. *APCBEE Procedia*, 4, 48-52.

Martin T., Gogo E.O., Saidi M., Kamal A., Delétré E., Bonafos R., Simon S., Ngouajio M., 2014 - Repellent effect of an alphacypermethrin treated net against the whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius. *J. Econ. Entom.*, 107, 2, 684-690.

Martin T., Palix R., Kamal A., Delétré E., Bonafos R., Simon S., Ngouajio M., 2013 - A repellent treated netting as a new technology for protecting vegetable crops. *J. Econ. Entom.*, 106, 4, 1699-1706.

Miller J.R., Siegert P.Y., Amimo F.A., Walker E.D., 2009 - Designation of chemical in terms of the locomotor responses they elicit from insects: an update of Dethier *et al.* (1960). *Ecol. Behav.*, 102, 6, 2056-2060.

Moore S.J., Lenglet A., Hill N., 2007 - Plant-based insect repellents, Chapter 14, In: Insect repellents: principles, methods and uses, Eds Debboun M., Frances S.P., Strickman D., CRC Press.

Muleke E.M., Saidi M., Itulya F.M., Martin T., Ngouajio M., 2013 - The Assessment of the Use of Eco-Friendly Nets to Ensure Sustainable Cabbage Seedling Production in Africa. *Agronomy*, 3, 1, 1-12.

Muniz M., Nombela G., Barrios L., 2002 - Within-plant distribution and infestation pattern of the B- and Q-biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci*, on tomato and pepper. *Entom. Exp. Appl.*, 104, 369-373.

Nerio L.S., Olivero-Verbel J., Stashenko E., 2010 - Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresource Technol.*, 101, 1, 372-378.

Perring T.M., 2001 - The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot.*, 20, 725-737.

R. Development Core Team, 2012 - R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R, Foundation for Statistical Computing.

Ramirez G.I.J., Logan J.G., Loza-Reyes E., Stashenko E., Moores G.D., 2012 - Repellents inhibit P450 enzymes in *Stegomyia (Aedes) aegypti*. *PLoS One*, 7, 11, 1-8.

Regnault-Roger C., Philogene B.J.R., Vincent C., 2002 - Biopesticide d'origine végétale, Ed Tec & Doc.

Regnault-Roger C., Vincent C., Arnasson J.T., 2012 - Essential oil in insect control: low-risk products in high-stakes world. *Ann. Rev. Entomol.*, 57, 405-424.

Santana-Rios G., Orner G.A., Amantana A., Provost C., Wu S.Y., Dashwood R.H., 2001 - Potent antimutagenic activity of white tea in comparison.

Togni P.H., Laumann R.A., Medeiros M.A., Sujii E.R., 2010 - Odour masking of tomato volatiles by coriander volatiles in host plant selection of *Bemisia tabaci* biotype B. *Entomologia experimentalis et applicata*, 136 ,2, 164-173.

Tosh C. R., Brogan B., 2014 - Control of tomato whiteflies using the confusion effect of plant odours. *Agronomy for Sustainable Development*, 1-11.

Vosshall L. B., Stocker R. F., 2007 - Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. *Annu. Rev. Neurosci.*, 30, 505-533.

Weintraub P.G., 2009 - Physical control : an important tool in pest management programs, pp. 317-324. I. Ishaaya and A.R. Horowitz (eds), Biorational control of arthropods pests. Springer science.

WHO, 2011 - World malaria report 2011, WHO Global malaria programme, WHO library.

Zhang W., McAuslane H.J., Schuster D.J., 2004 - Repellency of ginger oil to *Bemisia argentifolii* (Homoptera : Aleyrodidae) on tomato. *J. Eco. Entom.* 97, 4, 1310-1318.

Zoubiri S., Baalioumer A., 2011 - Potentiality of plants as source of insecticide principles. *J. Saudi Chem. Soc.* (in press)